

多枝雾水葛不同提取部位的抗炎镇痛作用研究

刘旭阳, 杜清涛, 李开莹, 邓 琪, 郭丽冰*

广东药学院 中药学院, 广东 广州 510006

摘 要: **目的** 研究多枝雾水葛不同提取物的抗炎镇痛作用。**方法** 采用二甲苯致小鼠耳肿胀、醋酸致小鼠扭体反应和小鼠热板法观察多枝雾水葛灌胃、外搽使用以及不同提取部位的抗炎、镇痛作用。**结果** 多枝雾水葛外搽使用的抗炎镇痛效果不明显, 灌胃给药具有较强的抗炎镇痛作用, 能显著减少醋酸所致的小鼠扭体次数和抑制二甲苯所致的小鼠耳廓肿胀, 且其水提物比醇提物的作用更强。对多枝雾水葛水提取物的活性部位研究表明, 多枝雾水葛的氯仿部位和水部位都具有较好的镇痛效果, 抗炎的有效部位则是氯仿部位和正丁醇部位。**结论** 多枝雾水葛水提取物灌胃给药具有抗炎镇痛作用, 其有效部位是氯仿部位、正丁醇部位和水提取部位。

关键词: 多枝雾水葛; 抗炎; 镇痛; 耳肿胀; 扭体反应; 热板法

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2012)04-0356-04

Anti-inflammatory and analgesic effects of different extract fractions from *Pouzolzia zeylanica* var. *microphylla*

LIU Xu-yang, DU Qing-tao, LI Kai-ying, Deng Qi, GUO Li-bing

School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

Abstract: **Objective** To study the anti-inflammatory and analgesic effects of different extracts from *Pouzolzia zeylanica* var. *microphylla*. **Methods** The xylene-induced ear edema of mice, acetic acid-induced writhing of mice, and hot-plate procedure in mice were used. The anti-inflammatory and analgesic effects of *P. zeylanica* var. *microphylla* by ig administration and external use were observed, and the effects of different extract fractions from *P. zeylanica* var. *microphylla* were studied. **Results** There were no obvious anti-inflammatory and analgesic effects of *P. zeylanica* var. *microphylla* by external use, while ig administration had stronger analgesia by significantly reducing the number of body torsion and inhibiting xylene-induced ear edema of mice. The water extracts had much better effect than the ethanol extracts. According to the study on the active fractions of water extract from *P. zeylanica* var. *microphylla*, it showed that both chloroform and water fractions had better analgesic effects, while the portions of chloroform and *n*-butanol had better anti-inflammatory activity. **Conclusion** The water extracts from *P. zeylanica* var. *microphylla* by ig administration has anti-inflammatory and analgesic effects and the main active fractions are chloroform, *n*-butanol, and water fractions. **Key words:** *Pouzolzia zeylanica* (L.) Benn. var. *microphylla* (Wedd.) W. T. Wang.; anti-inflammation; analgesia; ear edema; writhing; hot-plate procedure

多枝雾水葛 *Pouzolzia zeylanica* (L.) Benn. var. *microphylla* (Wedd.) W. T. Wang. 是荨麻科雾水葛属 4 种药用植物之一, 具有除湿、消肿、解毒的功效。多枝雾水葛别名地消散、脓见消、吸脓膏、石珠子, 植物资源丰富, 在民间有广泛的应用。国内外对雾水葛属植物的研究报道不多, 主要是关于药材的抗菌、抗氧化、驱虫、抗肿瘤和降血糖应用的少量报道^[1-3]。鉴于多枝雾水葛民间药用有口服和外搽两种用法, 本实验比较了多枝雾水葛水提物和醇提物、

灌胃和外搽以及不同极性溶剂萃取部位的抗炎、镇痛效果, 初步明确其活性部位, 为进一步深入探讨其作用机制、研究药效成分提供依据。

1 材料

1.1 仪器

SHZ—D (III) 循环水式真空泵 (巩义市英峪予华仪器厂); RE—52A 型旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂); Ay120 托盘电子天平 [岛津仪器 (苏州) 有限公司]; Elx—800 型热板仪 (Biotek)。

收稿日期: 2012-04-02

作者简介: 刘旭阳, 男, 陕西人, 2011 级研究生, 研究方向为中药化学成分研究与开发。Tel: 15989100521 E-mail: lxy5611@126.com

*通讯作者 郭丽冰, 女, 教授, 硕士生导师, 研究方向为中药化学成分研究与开发。Tel: (020)39352179 E-mail: xiaob-ing_12@yahoo.com.cn

1.2 试剂

跌打扭伤灵酊(广西邦琪药业有限公司,批号 080320);罗通定片(成都市湔江制药厂,批号 070504);吲哚美辛片(临汾奇林药业有限公司,批号 0803301);聚山梨酯 80(广州泰峰贸易有限公司);乙醇、醋酸、石油醚、氯仿、醋酸乙酯、正丁醇、二甲苯等均为分析纯(天津博迪化学试剂公司)。

1.3 药材

多枝雾水葛药材于 2008 年 7 月采于广州大学城,经广东药学院中药标本馆刘基柱副教授鉴定为荨麻科雾水葛属植物多枝雾水葛 *Pouzolzia zeylanica* (L.) Benn. var. *microphylla* (Wedd.) W. T. Wang 的全草。

1.4 动物

SPF 级 NIH 小鼠,体质量(20 ± 2) g,由广东省医学实验动物中心提供,合格证号为 SCXK(粤)2008-0002 号。饲养环境保持在 25℃ 左右,相对湿度约 55%。

2 方法

2.1 样品的制备

2.1.1 水提物的制备 多枝雾水葛去杂,粉碎,取 100 g,加 15 倍水加热提取 3 次,每次 1 h,滤过,合并滤液,浓缩,加蒸馏水定容至 100 mL,制成含生药 1 g/mL 水提物。

2.1.2 醇提物的制备 多枝雾水葛去杂,粉碎,取 100 g,加 15 倍 95%乙醇加热回流提取 3 次,每次 1 h,滤过,合并滤液,减压回收溶剂,浓缩成浸膏,(1)用聚山梨酯 80 为增溶剂,加蒸馏水溶解,并定容至 100 mL,制成含生药 1 g/mL 醇提物,作为灌胃剂。(2)用 70%乙醇定容至 100 mL,制成含生药 1 g/mL 醇提物,作为外搽剂。

2.1.3 不同极性部位灌胃剂的制备 多枝雾水葛去杂,粉碎,取 100 g,加 15 倍水加热提取 3 次,每次 1 h,滤过,合并滤液,适当浓缩。浓缩液依次用氯仿、醋酸乙酯、正丁醇萃取,分别减压回收溶剂,以聚山梨酯 80 为增溶剂,加蒸馏水溶解,并定容至 100 mL,制成含生药 1 g/mL 溶液,即为氯仿、醋酸乙酯、正丁醇和水部位高剂量灌胃剂;分别取高剂量灌胃剂与蒸馏水以 1:3 混合,制成含生药 0.25 g/mL 溶液,作为低剂量灌胃剂。

2.2 灌胃剂及外搽剂的抗炎、镇痛作用

2.2.1 二甲苯诱导小鼠耳肿胀试验^[4] 选取健康 NIH 小鼠 80 只,雌雄各半,适应性喂养 48 h 之后,

随机分为 8 组,空白对照组 ig 生理盐水 20 mL/kg;水提物、醇提物灌胃组 1 次/d,连续 3 d,给药量为 20 g/kg;吲哚美辛组在第 2、3 天 ig 1 mg/mL 吲哚美辛水溶液 1 次,给药量为 20 mL/kg;赋形剂 70%乙醇对照组、水提物外搽组、醇提物外搽组、外搽阳性对照跌打扭伤灵酊组先用硫化钠腹部脱毛 24 h 后,通过透皮吸收方式给药,给药量为 10 g/kg(阳性组为 10 mL/kg),每天 2 次,连续 3 d。各组于末次给药 30 min 后,在小鼠右耳两面涂二甲苯 50 μ L 致肿,左耳不涂为正常耳,1 h 后脱颈椎处死,沿耳廓基线剪下双耳,用直径 6 mm 打孔器冲下左耳及右耳同一部位的圆片,用电子天平精确测定左右耳样品质量,比较差值,计算肿胀度和肿胀抑制率。

肿胀度=右耳质量-左耳质量

肿胀抑制率=(右耳质量-左耳质量)/左耳质量 $\times$ 100%

2.2.2 醋酸致小鼠扭体法实验^[5] 选取健康 NIH 小鼠 80 只,雌雄各半,适应性喂养 48 h 之后,随机分为 8 组。空白对照组 ig 生理盐水 20 mL/kg;水提物、醇提物灌胃组 1 次/d,连续 3 d,给药量为 20 g/kg;罗通定组灌胃给药 8 mg/mL 罗通定水溶液 1 次/d,给药量 20 mL/kg;赋形剂 70%乙醇对照组、水提物外搽组、醇提物外搽组和外搽阳性对照跌打扭伤灵酊组用硫化钠腹部脱毛 24 h 后,通过透皮吸收方式给药,给药量为 10 g/kg(阳性组为 10 mL/kg),2 次/d,连续 3 d。各组于末次给药 1 h 后,ip 7 mg/mL 醋酸(醋酸溶液临用前配制)10 mL/kg,记录各组小鼠给药后 15 min 内扭体(腹部收缩内凹、伸展后肢、臀部抬高、蠕行)的次数。

2.2.3 小鼠热板法实验^[6] 选取雌性健康 NIH 小鼠,适应性喂养 48 h 之后,挑选痛阈值在 5~30 s 的小鼠 80 只,随机分为 8 组,空白对照组 ig 生理盐水 20 mL/kg;水提物、醇提物灌胃组 1 次/d,连续 3 d,给药量为 20 g/kg;罗通定组灌胃给药 0.8%罗通定水溶液 1 次/d,给药量 20 mL/kg;赋形剂 70%乙醇对照组、水提物外搽组、醇提物外搽组、外搽阳性对照跌打扭伤灵酊组用硫化钠腹部脱毛 24 h 后,通过透皮吸收方式给药,给药量为 10 g/kg(阳性组为 10 mL/kg),2 次/d,连续 3 d。各组于末次给药 1 h 后,将小鼠置于(55.0 $\pm$ 0.1)℃热板仪中,用秒表记录小鼠自投入热板至出现舔后足的时间作为该鼠的痛阈值(第 1 次舔足时间)。

2.3 不同极性部位的抗炎、镇痛作用

2.3.1 二甲苯诱导小鼠耳肿胀试验 选取健康 NIH

小鼠 80 只, 雌雄各半, 适应性喂养 48 h 之后, 随机分为 8 组, 参照“2.2.1”项中灌胃给药组进行操作, 不同极性部位给药量均为 20 mL 生药/kg。

2.3.2 醋酸致小鼠扭体法试验 选取健康 NIH 小鼠 80 只, 雌雄各半, 适应性喂养 48 h 之后, 随机分为 8 组, 参照“2.2.2”项中灌胃给药组进行操作, 不同极性部位给药量均为 20 mL 生药/kg。

2.3.3 小鼠热板法试验 选取健康 NIH 雌性小鼠 80 只, 适应性喂养 48 h 之后, 挑选痛阈值在 5~30 s 的小鼠, 随机分为 8 组, 每组 10 只, 参照“2.2.3”项中灌胃给药组进行操作, 不同极性部位给药量均为 20 mL/kg。

2.4 数据处理

用 SPSS 15.0 软件进行数据统计分析, 计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 进行多个样本单因素方差分析。

3 结果

3.1 灌胃剂及外搽剂抗炎、镇痛结果

3.1.1 二甲苯诱导小鼠耳肿胀试验 水提物组与空白对照组比较, 其耳廓肿胀率差异具有显著性; 醇提物灌胃组、外搽组与空白对照组比较差异均无显著性, 但也表现有抑制肿胀的趋势。提示多枝雾水葛水溶性成分有更好的抗炎作用, 且灌胃组抗炎效果比外搽组更好。结果见表 1。

表 1 多枝雾水葛不同粗提物及不同给药方式对小鼠耳廓肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 1 Effects of different crude extracts from *P. zeylanica* var. *microphylla* and various administration routes on xylene-induced ear edema in mice ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组 别	剂量/(g·kg ⁻¹)	肿胀度/mg	抑制率/%
空白对照	—	1.03±0.29	—
吲哚美辛	0.02	0.12±0.06**	88.3
水提物灌胃	20	0.52±0.30**	49.5
醇提物灌胃	20	0.80±0.23	23.3
赋形剂对照	10	0.98±0.29	—
水提物外搽	10	0.84±0.43	14.2
醇提物外搽	10	0.80±0.58	18.3
跌打扭伤灵酊	10 mL·kg ⁻¹	0.32±0.34 ^{△△}	67.3

与空白对照组比较: ** $P<0.01$; 与赋形剂对照组比较: ^{△△} $P<0.01$

** $P<0.01$ vs control group; ^{△△} $P<0.01$ vs excipient group

3.1.2 醋酸致小鼠扭体法试验 水提物灌胃组对醋酸致小鼠 15 min 内扭体反应有明显抑制作用, 而醇提物灌胃组差异并不显著, 水和醇提物外搽组没有明显作用, 结果显示多枝雾水葛水溶性成分有较

好的镇痛效果。结果见表 2。

表 2 多枝雾水葛不同粗提物及不同给药方式对醋酸致小鼠扭体反应的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 2 Effects of different crude extracts from *P. zeylanica* var. *microphylla* and various administration routes on acetic acid-induced writhing in mice ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组 别	剂量/(g·kg ⁻¹)	扭体次数/次
空白对照	—	22.50±6.59
罗通定	0.16	0.56±1.01**
水提物灌胃	20	16.50±3.16*
醇提物灌胃	20	17.12±8.20
赋形剂对照	10	21.33±6.32
水提物外搽	10	26.2±10.34
醇提物外搽	10	21.6±5.06
跌打扭伤灵酊	10 mL·kg ⁻¹	17.22±6.78

与空白对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group

3.1.3 热板法镇痛试验 各给药组对热板法均不敏感, 并不随给药时间延长而改变, 推测多枝雾水葛的镇痛作用可能不是中枢镇痛作用。结果见表 3。

表 3 多枝雾水葛不同粗提物及不同给药方式对热刺激小鼠痛阈值的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 3 Effects of different crude extracts from *P. zeylanica* var. *microphylla* and various administration routes on pain threshold of mice in hot-plate test ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组 别	剂 量 (g·kg ⁻¹)	痛阈值/s	
		给药前	给药后
空白对照	—	16.25±5.18	17.36±5.10
罗通定	0.16	16.02±5.14	76.25±34.53* [△]
水提物灌胃	20	16.17±5.04	19.10±7.84
醇提物灌胃	20	16.12±4.84	19.95±7.84
赋形剂对照	10	16.29±4.95	16.27±3.45
水提物外搽	10	16.69±5.03	19.90±5.58
醇提物外搽	10	17.22±5.24	11.09±2.67
跌打扭伤灵酊	10 mL·kg ⁻¹	16.50±5.36	16.90±6.54

与空白对照组比较: * $P<0.05$; 与用药前比较, [△] $P<0.05$

* $P<0.05$ vs control group; [△] $P<0.05$ vs pre-treatment

3.2 不同极性部位抗炎、镇痛结果

3.2.1 对二甲苯诱导小鼠耳肿胀试验 与空白对照组比较, 氯仿部位高、低剂量组, 正丁醇部位高、低剂量组耳廓肿胀度存在显著性差异, 其他组别也表现为抑制肿胀的趋势。而醋酸乙酯部位、水溶性部位各组中与空白对照组差异均无显著性。结果见

表 4。

3.2.2 醋酸致小鼠扭体法试验 相对于空白对照组, 氯仿部位低剂量组, 醋酸乙酯部位高剂量组, 水溶性部位高、低剂量组对醋酸致小鼠 15 min 内扭体反应均有明显抑制作用, 而氯仿部位高剂量组、醋酸乙酯部位低剂量组、正丁醇部位组并没有显著

差异, 结果提示多枝雾水葛的氯仿部位、醋酸乙酯部位和水溶性部位都有较好的镇痛效果, 不同剂量组之间的量效关系也有明显差异。结果见表 4。

3.2.3 热板法镇痛试验 各给药组对热板法均不敏感, 并不随给药时间延长可推测多枝雾水葛可能没有中枢镇痛作用。结果见表 4。

表 4 多枝雾水葛不同极性部位对小鼠耳廓肿胀、醋酸致小鼠扭体反应和热刺激小鼠痛阈值的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 4 Effects of different polar extracts from *P. zeylanica* var. *microphylla* on xylene-induced ear edema of mice, acetic acid-induced writhing of mice, and pain threshold of mice in hot-plate test ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组 别	剂 量 (g·kg ⁻¹)	肿胀度/mg	抑制率/%	扭体次数/次	痛阈值/s	
					给药前	给药后
空白对照	—	0.67±0.27	—	12.89±4.48	15.15±5.15	16.23±4.52
氯仿部位	20	0.40±0.18*	40.3	11.10±7.31	15.01±3.30	16.40±4.75
	5	0.36±0.32*	46.3	7.54±4.88*	14.67±4.45	14.20±4.71
醋酸乙酯部位	20	0.56±0.31	16.4	7.45±2.30**	15.72±6.50	17.66±7.12
	5	0.48±0.55	28.4	8.33±6.85	15.04±4.03	14.97±3.92
正丁醇部位	20	0.27±0.21**	59.7	9.86±7.67	15.26±5.16	12.97±4.88
	5	0.39±0.27*	41.8	10.91±10.53	14.60±5.22	17.34±6.02
水部位	20	0.44±0.19	34.3	6.75±6.56*	15.00±4.31	16.12±5.50
	5	0.42±0.33	37.3	4.71±2.21**	15.31±4.19	14.87±8.74
吲哚美辛/ 罗通定	0.02/0.16	0.18±0.09**	73.1	0.33±0.71**	15.20±4.75	53.44±10.98* [△]

与空白对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与用药前比较, [△] $P<0.05$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group; [△] $P<0.05$ vs pre-treatment

4 讨论

多枝雾水葛作为清热解毒药, 对皮肤感染的治疗作用确切, 而炎症在体表溃疡的发生发展过程中具有重要的作用, 常常伴随着疼痛等。实验采用经典的疼痛、炎症模型, 观察了多枝雾水葛的抗炎和镇痛作用。结果显示, 多枝雾水葛外搽的抗炎、镇痛效果不明显, 说明对于没有外伤脓肿的皮肤, 外搽没有抗炎、镇痛药效, 一定程度上解释了古籍记载“雾水葛, 拔脓效力甚强, 无脓者勿用之, 以免增痛”的原因。对于多枝雾水葛的“拔脓草”作用, 还需要建立动物脓肿模型进一步研究。

多枝雾水葛灌胃时具有较强的抗炎镇痛作用, 能显著减少醋酸所致的小鼠扭体次数和显著抑制二甲苯所致的小鼠耳廓肿胀。其中, 多枝雾水葛的水提物比醇提物的作用效果更好, 对多枝雾水葛水提取物进一步的活性部位研究表明, 正丁醇部位高剂

量的抗炎效果最好, 镇痛作用最好的则是水部位。实验结果发现各试药组对热板法均不敏感, 提示多枝雾水葛的镇痛作用可能不在于中枢, 而在外周。

参考文献

- [1] 周燕园, 廖月葵, 钟振国, 等. 水麻秧的生药鉴定 [J]. 中药材, 2009, 32(7): 1036-1038.
- [2] Li P Y, Huo L N, Su W, et al. Free radical-scavenging capacity, antioxidant activity and phenolic content of *Pouzolzia zeylanica* [J]. *J.Serb Chem Soc*, 2011, 76(5):709-717.
- [3] 岑 欢, 冯惠珍, 彭晓洪, 等. 雾水葛对糖尿病小鼠血糖的影响 [J]. 牡丹江医学院学报, 2010, 31(3): 12-15.
- [4] 徐叔云, 卞如濂, 陈 修. 药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1992: 719.
- [5] 徐叔云. 药理实验方法学 [M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 882.
- [6] 陈 奇. 中药药理研究方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993: 223.